

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK HERBA ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.) TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* PADA MENCIT Balb/C INDUKSI STREPTOZOTOCIN

SKRIPSI
Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



YESSI PERLITASARI
G 0007173

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
Surakarta
2010

PENGESAHAN SKRIPSI

**Skripsi dengan judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Anting-anting
(*Acalypha indica* Linn) terhadap Kadar *Malondialdehyde* pada Mencit
Balb/C Induksi Streptozotocin.**

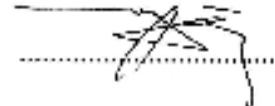
Yessi Perlitasari, NIM/Semester : G0007173/VI, Tahun 2010

**Telah diuji dan sudah disahkan dihadapan Dewan Penguji Skripsi Fakultas
Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta**

Pada Hari Senin, Tanggal 12 Juli 2010

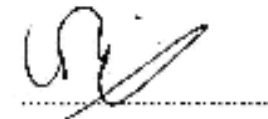
Pembimbing Utama

Nama : Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si.
NIP : 19680429 199903 1 001



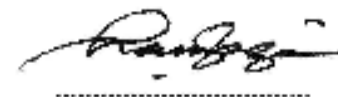
Pembimbing Pendamping

Nama : Marlina, Dra, M.Si.
NIP : 19571113 198601 2 001



Penguji Utama

Nama : R. P. Andri Putranto, dr., M.Si.
NIP : 19630525 199603 1 001



Anggota Penguji

Nama : Ipsip Syarifah, Dra, M.Si.
NIP : 19560328 198503 2 001



Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

**Sri Wahjono, dr., M.Kes.
NIP: 19450824 197310 1 001**

**Prof. Dr. H. A. A. Subijanto, dr. MS.
NIP: 19481107 197310 1 003**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juli 2010

Yessi Perlitasari

NIM : G0007173

ABSTRAK

Yessi Perlitasari, G0007173, 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada Mencit Balb/C Induksi Streptozotocin.

Tujuan Penelitian: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak herba anting-anting terhadap kadar MDA pada Mencit Balb/C dengan induksi streptozotocin.

Metode Penelitian: Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik *post test only group design*. Induksi diabetes menggunakan streptozotocin dosis 65 mg/kgBB dalam 0,02 M larutan buffer salin sitrat yang diberikan secara intra peritoneal. Hewan uji yang digunakan adalah 32 ekor mencit jantan yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan : (1) Kelompok kontrol non diabetes; (2) Kelompok diabetes; (3) Kelompok diabetes yang diberi metformin dosis 1,3 mg/mencit/hari dan (4) Kelompok diabetes yang diberi ekstrak anting-anting dosis 1000mg/kgBB/hari. Penelitian ini berjalan selama 2 minggu dan berakhir dengan pengambilan darah melalui sinus orbitalis mencit. Sample darah kemudian diberi EDTA, disentrifuge (15 menit, 3000 rpm, 37°C) untuk selanjutnya diambil serum dan dilakukan pemeriksaan MDA di Laboratorium Biokimia FK UGM, Yogyakarta. Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan uji *Anova* menggunakan *SPSS for Windows release 16.0*. Signifikansi yang digunakan adalah $p < 0,05$.

Hasil Penelitian: Kadar MDA kelompok kontrol $0,211 \pm 0,145 \mu\text{mol/L}$, kelompok DM $0,363 \pm 0,208 \mu\text{mol/L}$, kelompok DM dengan metformin $0,389 \pm 0,187 \mu\text{mol/L}$ dan kelompok DM dengan herba anting-anting $0,309 \pm 0,145 \mu\text{mol/L}$. Analisis menggunakan uji *Anova* menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p = 0,199$).

Simpulan Penelitian: Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak herba anting-anting mampu menurunkan kadar MDA Mencit Balb/C induksi streptozotocin namun tidak bermakna secara statistik ($p = 0,538$).

Kata kunci: anting-anting, *malondialdehyde*, streptozotocin, diabetes mellitus

ABSTRACT

Yessi Perlitasari, G0007173, 2010. The Effect of Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) Extract with Malondialdehyde (MDA) Levels of Balb/C Mice Induced Streptozotocin

Objective: To examine the effect of anting-anting (*Acalypha indica* Linn) extract with malondialdehyde levels of Balb/C mice induced streptozotocin.

Method: This study was a laboratory experimental post test only control group design. Diabetes was induced by intraperitoneal streptozotocin doses of 65 mg/kg body weight dissolved in 0,02 M citrate saline buffer. The subjects used were 32 male mice divided into 4 groups : (1) Non-diabetic control group; (2) Diabetic group; (3) Treated-diabetic group with metformin doses of 1,3 mg/mice/day and (4) Treated-diabetic group with anting-anting extract dose 1000 mg/kg body weight/day. After 2 weeks, malondialdehyde level was measured. Blood was collected in clean centrifuge tube with EDTA from orbitalis sinus and centrifuged (15 minutes at 3000 rpm, 37°C). The serum used for MDA assay in Biochemistry Laboratory, Faculty of Medicine Gadjah Mada University. The data obtained were statistic analyzed by Anova using SPSS Programme for Microsoft Windows release 16.0. Significance was set at $p < 0,05$.

Result: MDA levels of non-diabetic control group $0,211 \pm 0,145$ $\mu\text{mol/L}$, diabetic group $0,363 \pm 0,208$ $\mu\text{mol/L}$, treated-diabetic group with metformin $0,389 \pm 0,187$ $\mu\text{mol/L}$ and treated-diabetic group with anting-anting extract $0,309 \pm 0,145$ $\mu\text{mol/L}$. Statistical analyses with Anova showed that the result was not significance ($p = 0,199$).

Conclusion: The experiment result showed that anting-anting (*Acalypha indica* Linn) extract doses 1000 mg/kg body weight/day can reduce the MDA levels in Balb/C mice induced streptozotocin but statistically insignificance ($p = 0,538$).

Keyword: Anting-anting, malondialdehyde, streptozotocin, diabetes mellitus

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada Mencit Balb/C Induksi Streptozotocin”.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dapat terlaksana dengan baik atas bantuan, bimbingan, saran dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. AA Subijanto, dr. MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., M.Kes., selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si., selaku Pembimbing Utama yang dengan penuh kesabaran meluangkan waktunya untuk bimbingan, saran, koreksi dan nasehat kepada penulis.
4. Martini, Dra, M.Si., selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan untuk bimbingan, saran, koreksi dan nasehat kepada penulis.
5. RP. Andri Putranto, dr., M.Si., selaku Penguji Utama yang telah memberikan bimbingan, kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan naskah skripsi ini.
6. Ipop Syarifah, Dra, M.Si., selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan bimbingan, kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan naskah skripsi ini.
7. Seluruh Staf Laboratorium Biokimia dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah membantu proses penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi dunia kedokteran pada khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Surakarta, Juli 2010

Yessi Perlitasari

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Penelitian.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Anting-anting	
a. Taksonomi	5
b. Nama lokal.....	6
c. Morfologi dan sifat.....	6
d. Kandungan kimia tanaman anting-anting.....	7
e. Efek farmakologi tanaman anting-anting.....	8
2. Diabetes melitus	
a. Definisi.....	9
b. Patofisiologi.....	9
c. Klasifikasi.....	9
d. Penegakan diagnosis.....	12

e. Penatalaksanaan.....	12
f. Komplikasi.....	15
3. <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	
a. Definisi.....	15
b. Pembentukan MDA.....	16
c. Cara pemeriksaan dan interpretasi hasil.....	16
d. Diabetes melitus, MDA dan stres oksidatif.....	17
4. Streptozotocin.....	18
5. Metformin.....	19
B. Kerangka Pemikiran	
1. Kerangka konseptual	21
2. Kerangka teoritis	22
C. Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	24
B. Lokasi Penelitian.....	24
C. Subyek Penelitian.....	24
D. Teknik Sampling.....	24
E. Besar Sampel.....	25
F. Identifikasi Variabel Penelitian.....	26
G. Skala Variabel.....	26
H. Definisi Operasional Variabel.....	27
I. Rancangan Penelitian.....	28
J. Instrumentasi Penelitian.....	28
K. Penentuan Dosis.....	29
L. Alur Penelitian.....	31
M. Desain Analisis Statistik.....	34
BAB IV HASIL PENELITIAN	
A. Hasil Penelitian.....	35
B. Analisis Data.....	36

BAB V PEMBAHASAN.....	38
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Efek Farmakologi dan Kandungan Kimia Anting-anting.....	8
Tabel 4.1. Rata-rata Kadar <i>Malondialdehyde</i> Mencit Balb/c.....	35
Tabel 4.2. Hasil Uji <i>Shapiro-Wilk</i> pada Kelompok Perlakuan.....	36
Tabel 4.3. Hasil Uji Statistik dengan Uji <i>Anova</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Anting-anting (<i>Acalypha indica</i> Linn).....	7
Gambar 2.2. Struktur Kimia Malondialdehyde.....	15
Gambar 2.3. Mekanisme Peroksidasi PUFA.....	16
Gambar 2.4. Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks MDA-TBA.....	17
Gambar 2.5. Struktur Kimiastreptozotocin($C_8H_{15}N_3O_7$).....	18
Gambar 2.6. Skema Efek Toksik Streptozotocin pada Sel Beta yang Mengakibatkan Diabetes secara Kimia.....	19
Gambar 2.7. Kerangka Konseptual.....	21
Gambar 3.1. Rancangan Penelitian.....	28
Gambar 3.2. Skema Alur penelitian.....	33
Gambar 4.1. Diagram Batang Rata-rata MDA Mencit Sesudah Perlakuan.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Tabel Nilai Konversi Dosis untuk Manusia dan Hewan.....	49
Lampiran 2.	Tabel Daftar Volume Maksimal Bahan Uji Pada Pemberian Secara Oral.....	50
Lampiran 3.	Hasil Pengukuran Kadar MDA Mencit Balb/c Setiap Kelompok Perlakuan.....	51
Lampiran 4.	Uji ANOVA Malondialdehyde (MDA) Mencit Balb/c Model Diabetes.....	52
Lampiran 5.	Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	54
Lampiran 6.	Surat Ijin Penelitian Pembuatan Ekstrak di LPPT UGM.....	55
Lampiran 7.	Surat Ijin Pemeriksaan Kadar MDA Sampel di Laboratorium Biokimia FK.....	56
Lampiran 8.	Lembar Kerja Uji Ekstraksi.....	57
Lampiran 9.	Hasil Pemeriksaan Kadar <i>Malondialdehyde</i>	59
Lampiran 10.	Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	60
Lampiran 11.	Foto Kegiatan Penelitian	62

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif yang morbiditasnya akan terus meningkat di masa mendatang. *American Diabetes Association* meramalkan peningkatan prevalensi penderita DM mencapai 2.8% pada 2000 dan akan terus meningkat menjadi 4.4% pada 2030. Jumlah total penderita DM di dunia diperkirakan mendekati 171 juta orang pada tahun 2000 dan 366 juta pada 2030 (Wild, 2004).

Menurut *World Health Organization* (WHO), DM menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi, terutama karena komplikasi vaskularnya. Luasnya komplikasi pada DM tampaknya berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani-Nobar, 1999). Fenomena ini dapat disebabkan oleh kemampuan hiperglikemia secara *in vivo* dalam modifikasi oksidatif berbagai substrat. Selain itu, hiperglikemia juga terlibat dalam proses pembentukan radikal bebas (Droge, 2002). Hiperglikemia yang terjadi pada DM menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, *deoxyribonucleic acid* (DNA),

dan protein pada berbagai jaringan (Ueno, 2002). Senyawa oksigen reaktif yang berinteraksi dengan *lipid bilayer* pada membran sel akan menghasilkan peroksidase lipid dan akan membentuk produk akhir yang stabil berupa *malondialdehyde* (MDA) (Mahreen, 2010). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas yang berakhir pada kerusakan oksidatif.

Untuk meredam kerusakan oksidatif tersebut diperlukan antioksidan. Secara umum, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan enzimatik dan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik yang disebut juga antioksidan pencegah terdiri atas *superoxide dismutase*, *catalase* dan *glutathione peroxidase*. Sedangkan antioksidan nonenzimatik yang disebut juga antioksidan pemutus rantai meliputi vitamin C, vitamin E dan beta karoten (Chevion, 2003). Selain vitamin E dan vitamin C, beberapa flavonoid yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan terbukti berkhasiat antioksidan. Peningkatan *in take* antioksidan yang disertai penurunan kadar glukosa darah dapat digunakan sebagai salah satu terapi hiperglikemia dan akan membantu pencegahan komplikasi klinis DM.

Obat-obat antidiabetik oral biasanya tergolong obat yang mahal dan harus terus-menerus digunakan, sehingga bagi yang tidak mampu sulit untuk memperolehnya. Oleh karena itu pengobatan herbal yang efektif dan ekonomis mulai berkembang di beberapa negara, termasuk Indonesia. Anting-anting atau *Acalypha indica* Linn merupakan salah satu tanaman obat yang

potensial dikembangkan. Daunnya yang berkhasiat obat sering digunakan untuk obat pencahar (cuci perut), peluruh batu ginjal, diabetes melitus (Nandhakumar, 2009), serta antibiotik. Aning-aning mengandung beberapa senyawa kimia antara lain flavonoid, saponin, tanin, dan minyak atsiri (Hutapea, 1993). Dari beberapa senyawa kimia tersebut, flavonoid diduga mempunyai peranan yang penting sebagai antioksidan. Selain flavonoid, kandungan lain berupa β -sitosterol- β -D-glucoside juga telah terbukti memiliki efek hipoglikemik (Duke, 2010).

Berdasarkan kandungan bahan aktif yang terdapat didalamnya, maka penulis akan meneliti pengaruh pemberian ekstrak aning-aning terhadap kadar MDA.

B. Perumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian ekstrak herba aning-aning terhadap kadar MDA pada Mencit Balb/C dengan induksi streptozotocin?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak herba aning-aning terhadap kadar MDA pada Mencit Balb/C dengan induksi streptozotocin.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak herba anting-anting terhadap kadar MDA Mencit Balb/C induksi streptozotocin, serta memberi informasi mengenai efektivitasnya pada mencit dibandingkan dengan metformin.

2. Manfaat aplikatif

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan potensi dan memberikan informasi pengobatan herbal lokal serta dapat menjadi dasar penelitian fitofarmaka anting-anting untuk terapi diabetes mellitus.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Anting-anting

a. Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (berpembuluh)
Superdivisio	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> / <i>Dicotyledoneae</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Familia	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha indica</i> Linn
Sinonim	: <i>A. spicata</i> Forsk., <i>A. Canescens</i> Wall., <i>A. australis</i> Linn. (Hutapea, 1993)

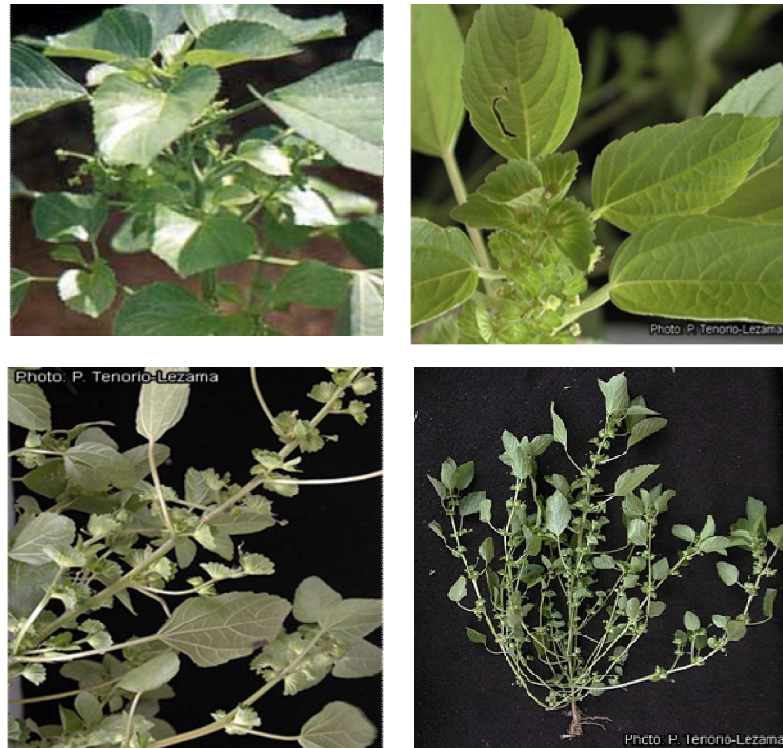
b. Nama lokal

Tanaman ini dapat ditemukan di beberapa negara dengan nama khas pada tiap-tiap negara, diantaranya:

- 1) Indonesia dengan nama Lelatang, Kucing-kucingan dan Rumput Kokosengan
- 2) Malaysia dengan nama Rumput Lislis dan Tjeka Mas
- 3) Filipina dengan nama Bugos, Maraotong dan Taptapingar
- 4) Thailand dengan nama Tamyae Tuaphuu, Tamyae Maeo dan Haan Maeo (Nurhaman, 2010).

c. Morfologi dan Sifat

Acalypha indica Linn. merupakan tanaman semusim, tegak, dengan tinggi 30 s.d. 50 cm, bercabang dengan garis memanjang kasar, dan berambut halus. Selain itu, tanaman ini memiliki daun tunggal, bertangkai panjang, dan letaknya tersebar. Helaian daunnya berbentuk bulat telur sampai lanset, tipis, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi dengan panjang 2,5 s.d. 8 cm, lebar 1,5 s.d. 3.5 cm, dan berwarna hijau. Tanaman ini juga memiliki bunga majemuk yang keluar dari ketiak daun, kecil-kecil, dan dalam rangkaian berbentuk bulir. Buahnya kotak, bulat, dan hitam (IPTEKnet, 2010).



Gambar2.1. Anting-anting (*Acalypha indica* Linn).
(diunduh dari *Prota Base Record display*, 2010)

d. Kandungan Kimia Tanaman Anting-anting

Berdasarkan hasil penelitian secara kualitatif yang telah dilakukan terhadap ekstrak akar tanaman *Acalypha indica* Linn, ditemukan bahwa ekstrak tanaman tersebut mengandung zat berkhasiat berupa golongan senyawa fenol, flavonoid, minyak atsiri, senyawa golongan steroid, triterpenoid, dan alkaloida (Yuniarti, 2008). Pada akarnya juga dapat ditemukan saponin dan tanin (Dalimartha, 1999).

Pada penelitian fitokimia lain, Balakrishnan (2009) mengungkapkan bahwa pada *Acalypha indica* Linn didapatkan adanya *acalyphamide*, *aurantiamide*, *succinimide*, *calypholacetate*, *2-methyl anthraquinone*, *tri-o-methylelagic acid*, β -sitosterol- β -D-glucoside, *cyanogenetic glycoside*, viz *Acalyphine*, *triacetoneamine*, *n-octanol*, β -sitosterolacetate, *kaempferol*, *quebrachitol*, tanin, *resin*, *hydrocyanic acid* serta minyak esensial.

e. Efek Farmakologi Tanaman Anting-anting

Berdasarkan *Phytochemical and Ethnobotanical Databases* (Duke, 2010), efek farmakologi dan kandungan anting-anting dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 2.1.Efek Farmakologi dan Kandungan Kimia Anting-anting.

Efek Farmakologis	Kandungan Kimia
Xanthin Oxidase Inhibitor	Tanin
β Glucuronidase inhibitor	Asam askorbat
Hipoglikemia	Asam askorbat, β -sitosterol- β -D-glucoside
Antidiabetik	Fiber , asam askorbat
Antioksidan	Kaempferol, tanin, asam askorbat
AntiAGE	Asam askorbat
5 Lipoxygenase Inhibitor	Kaempferol

(Duke, 2010)

Selain efek farmakologi diatas, anting-anting sering digunakan sebagai antiradang, antibiotik, diuretik, pencahar dan penghenti perdarahan (hemostatis) dalam bentuk segar atau yang telah dikeringkan (Dalimartha,1999).

2. Diabetes Melitus

a. Definisi

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu kelompok kelainan metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (Holt, 2004). Menurut WHO (1999) DM didefinisikan sebagai kelainan metabolik dengan berbagai macam penyebab dan memiliki karakteristik hiperglikemia kronik yang disebabkan oleh tidak sempurnanya metabolisme karbohidrat, lipid dan protein karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya.

b. Patofisiologi

Beberapa proses patogenik berperan dalam perkembangan DM, mulai dari kerusakan sel pankreas karena proses autoimun yang mengakibatkan defisiensi insulin hingga kelainan yang menyebabkan resistensi dari kerja insulin. Kedua hal tersebutlah yang merupakan penyebab utama terjadinya hiperglikemia pada DM (American Diabetes Association, 2008).

c. Klasifikasi

Berdasarkan *American Diabetes Association* (2008), klasifikasi etiologik DM dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu:

- 1) Diabetes Melitus Tipe I (destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut)
 - a) Melalui proses imunologik
 - b) Idiopatik
- 2) Diabetes Melitus Tipe II (bervariasi mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang predominan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin)
- 3) Diabetes Melitus Tipe Lain
 - a) **Defek genetik fungsi sel beta**
 - (1) Kromosom 12, HNF-1 α (MODY3)
 - (2) Kromosom 7, *glucokinase* (MODY2)
 - (3) Kromosom 20, HNF-4 α (MODY1)
 - (4) Kromosom 13, *insulin promoter factor-1* (IPF-1; MODY4)
 - (5) Kromosom 17, HNF-1 α (MODY5) 6
 - (6) Kromosom 2, NeuroD1 (MODY6)
 - (7) DNA mitokondria
 - (8) Lainnya
 - b) **Defek genetik kerja insulin** : resistensi insulin tipe A, *leprechaunism*, sindrom Rabson-Mendenhall, diabetes lipoatrofik, lainnya.

- c) **Penyakit eksokrin pankreas** : pankreatitis, trauma / pankreatektomi, neoplasma, fibrosis kistik, hemokromatosis, pankreatopati fibro kalkulus, lainnya.
 - d) **Endokrinopati** : akromegali, sindrom Cushing, feokromositoma, hipertiroidisme somatostatinoma, aldosteronoma, lainnya.
 - e) **Karena obat atau zat kimia** : vacor, pentamidin, asam nikotinat, glukokortikoid, hormon tiroid, diazoxid, agonis β adrenergik, tiazid, dilantin, interferon α , lainnya.
 - f) **Infeksi** : rubella kongenital, CMV, lainnya.
 - g) **Imunologi** : sindrom “Stiff-man”, antibody anti reseptor insulin,
 - h) **Sindrom genetik lainnya** : sindrom Down, sindrom Klinefelter, sindrom Turner, sindrom sindrom Wolfram, sindrom Friedreich, sindrom Huntington, sindrom Laurence-Moon-Biedl, distrofi miotonik, porfiria, sindrom Prader-Willi, lainnya.
- 4) **Diabetes Gestasional**

Diabetes melitus gestasional adalah diabetes yang timbul selama kehamilan. Pada kebanyakan kasus, toleransi glukosa kembali ke normal setelah melahirkan namun risiko seumur hidup untuk mengalami Intoleransi Glukosa Terganggu (IGT) dan NIDDM pada umumnya meningkat (Gustaviani, 2007).

d. Penegakan Diagnosis

Diagnosis klinik DM umumnya akan dipikirkan bila terdapat keluhan khas berupa poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya (Gustaviani, 2007). Namun diagnosis DM harus didasarkan atas pemeriksaan kadar glukosa darah. Umumnya kadar glukosa serum puasa dalam keadaan normal adalah 70-110 mg/dl. Hiperglikemia didefinisikan bila kadar glukosa puasa yang lebih tinggi dari 110 mg/dl, sedangkan hipoglikemia bila kadarnya lebih rendah dari 70 mg/dl (Schteingart, 2005a). Diagnosis DM dapat ditegakkan apabila kadar glukosa darah sewaktu plasma vena atau darah kapiler ≥ 200 mg/dl, kadar glukosa darah puasa plasma vena ≥ 126 mg/dl atau kadar glukosa darah puasa darah kapiler ≥ 110 mg/dl (Gustaviani, 2007).

e. Penatalaksanaan

Penatalaksanaan DM terdiri dari terapi non farmakologis yang meliputi perubahan gaya hidup dengan melakukan pengaturan pola makan dan peningkatan aktivitas jasmani serta terapi farmakologis yang berupa pemberian obat anti diabetes oral dan injeksi insulin. Terapi farmakologis ini pada prinsipnya diberikan jika penerapan terapi non farmakologis yang telah dilakukan tidak dapat mengendalikan kadar glukosa darah sebagaimana yang diharapkan

(Yunir, 2007). Dalam pemilihan intervensi farmakologis perlu diperhatikan titik kerja obat dengan penyebab hiperglikemia. Terdapat 5 golongan anti diabetik oral yang dapat digunakan pada terapi DM dan telah dipasarkan di Indonesia, yaitu golongan sulfonilurea, meglitinid, biguanid, penghambat α -glikosidase dan tiazolidinedion (Suherman, 2007).

1) Sulfonilurea

Mekanisme kerja sulfonilurea meliputi penglepasan insulin dari sel β pankreas, pengurangan kadar glukagon dalam serum, dan efek ekstrapankreas untuk memperkuat kerja insulin pada jaringan targetnya (Karam, 1998). Dikenal 2 generasi sulfonilurea, generasi I terdiri dari tolbutamid, tolazamid, asetoheximid dan klorpropamid. Generasi II yang potensi hipoglikemik lebih besar antara lain gliburid (glibenklamid), glipizid, gliklazid dan glimepirid.

2) Meglitinid

Glinid merupakan obat yang cara kerjanya sama dengan sulfonilurea, dengan penekanan pada meningkatkan sekresi insulin fase pertama. Golongan ini terdiri dari 2 macam obat yaitu: repaglinid (derivat asam benzoat) dan nateglinid (derivat fenilalanin). Obat ini diabsorpsi dengan cepat setelah pemberian secara oral dan diekskresi secara cepat melalui hati (PERKENI, 2006).

3) Biguanid

Mekanisme kerja biguanida tetap sukar diketahui. Mekanisme yang diusulkan saat ini meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dalam darah, mengurangi glukoneogenesis hati, memperlambat absorpsi gula dari saluran pencernaan, mengurangi kadar glucagon plasma dan meningkatkan pengikatan insulin pada reseptor insulin (Karam, 1998). Golongan ini terdiri dari fenformin, buformin dan metformin.

4) Penghambat α -glukosidase

Obat penghambat golongan enzim α -glukosidase ini dapat memperlambat absorpsi polisakarida (*starch*), dekstrin dan disakarida di intestinum. Akarbose dan miglitol merupakan penghambat kompetitif α -glukosidase usus dan memodulasi pencernaan pasca prandial serta absorpsi zat tepung dan disakarida (Katzung, 2002).

5) Tiazolidinedion

Golongan ini mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan meningkatkan jumlah protein pengangkut glukosa, sehingga meningkatkan ambilan glukosa di perifer. Yang termasuk dalam golongan ini adalah ciglitazon, pioglitazon, englitazon dan CS-045 (Karam, 1998).

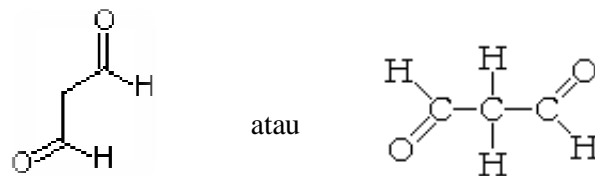
f. Komplikasi

Jika dibiarkan dan tidak dikelola dengan baik, DM akan menyebabkan terjadinya berbagai komplikasi akut dan komplikasi kronik. Komplikasi akut diabetes melitus meliputi ketoasidosis diabetik, hiperosmolar non ketotik dan hipoglikemi. Sedangkan komplikasi kronik dapat berupa mikroangiopati maupun makroangiopati (Schteingart, 2005b).

3. *Malondialdehyde (MDA)*

a. Definisi

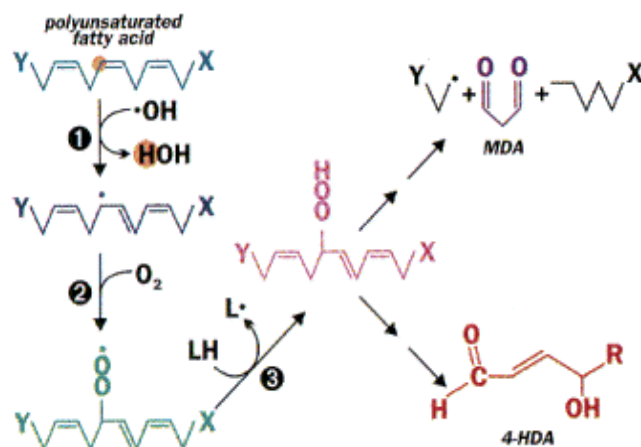
Malondialdehyde(MDA) adalah senyawa kristal higroskopis berwarna putih yang terbentuk dari hidrolisis asam *1,1,3,3-tetraethoxypropane* (Slatter, 1998). Salah satu biomarker yang sering digunakan untuk mengetahui level peroksidasi lipid total adalah kadar dari *malondialdehyde* plasma (P-MDA) (Nielsen,1997).



Gambar 2.2. Struktur Kimia *Malondialdehyde*(dunduh dari *Current Protocols*, 2010)

b. Pembentukan MDA

Malondialdehyde terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yang merupakan reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) seperti OH[•] dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akibat akhir dari reaksi rantai tersebut adalah terbentuknya hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan molekul-molekul biologi termasuk protein dan lipid serta dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk dari proses ini (Edyson, 2003).

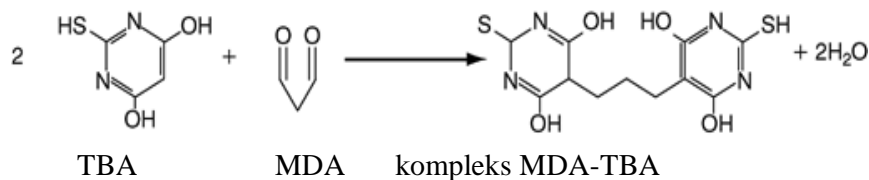


Gambar 2.3. Mekanisme peroksidasi PUFA.
(unduh dari *EU Project*, 2010)

c. Cara pemeriksaan dan interpretasi hasil

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan, untuk memeriksa kadar MDA plasma, salah satunya *TBA* (*Thiobarbituric*

Acid) *reactivity test*, yang dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Dan jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Josephy, 1997). Kadar MDA plasma normal umumnya berkisar antara $0.89 \pm 0.29 \mu\text{mol/L}$ pada analisis langsung, dan $0.88 \pm 0.29 \mu\text{mol/L}$ dengan menggunakan HPLC (Badcock, 1997).



Gambar 2.4. Reaksi pembentukan senyawa kompleks MDA-TBA berwarna merah muda yang dapat diukur serapannya pada panjang gelombang 520 nm (Diunduh dari *Current Protocols*, 2010).

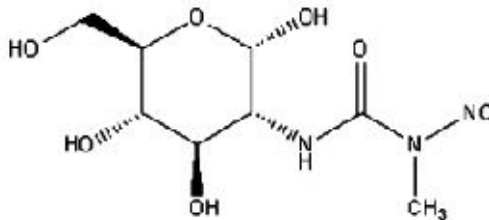
d. Diabetes Melitus, MDA dan Stres Oksidatif

Terdapat beberapa jalur mekanisme peningkatan stres oksidatif akibat hiperglikemia, yaitu jalur poliol, jalur peningkatan produksi *Advanced Glycation End products* (AGEs), jalur aktivasi protein kinase C (PKC), *hexosamine pathway flux* (Adi, 2009) dan autooksidasi glukosa (Setiawan dan Suhartono, 2005). Pada keadaan hiperglikemia terjadi peningkatan produksi AGE prekursor

yang mengakibatkan kerusakan sel melalui 3 mekanisme yang berakhir pada kerusakan vaskular sehingga kadar MDA meningkat. Jalur poliol juga dapat merusak sel yang berakibat pada peningkatan kadar MDA. Selain itu jalur heksosamin turut meningkatkan produksi hidrogen peroksida sehingga terjadi peningkatan pembentukan MDA.

4. Streptozotocin

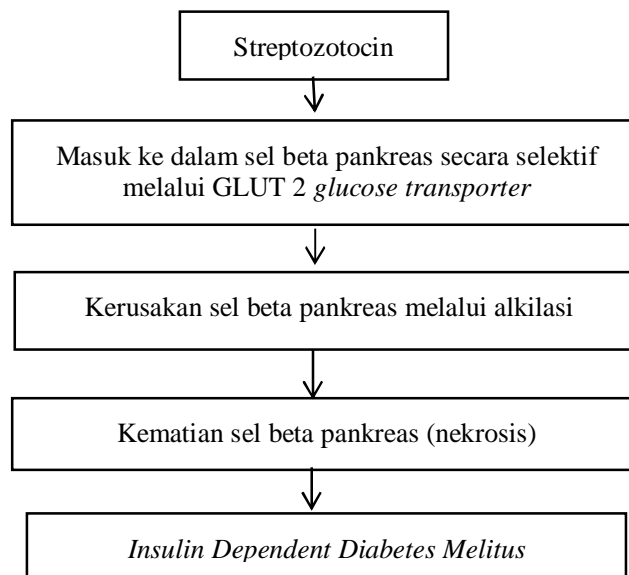
Streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose)disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* dan sering digunakan untuk induksi *insulin-dependent* dan *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM dan NIDDM) pada hewan coba (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.5. Struktur kimiastreptozotocin ($C_8H_{15}N_3O_7$) (Lenzen, 2008).

Streptozotocin menghambat sekresi insulin dan menyebabkan suatu keadaan yang dikenal dengan *insulin-dependent diabetes mellitus*. Streptozotocin secara selektif terakumulasi pada sel β pankreas melalui *low-affinity GLUT2 glucose transporter* pada membran plasma

(Elsner, 2000).Masuknya gugus metil (alkilasi) dari streptozotocin kedalam molekul DNA akan menyebabkan kerusakan pada fragmen DNA.Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan *poly adenosine diphosphate (ADP)-ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)* seluler, lebih lanjut akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate (ATP)* dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001).Penurunan cadangan energi selular ini diduga turut menyebabkan terjadinya nekrosis sel β pankreas (Lenzen, 2008).



Gambar2.6.Skema efek toksik streptozotocin pada sel beta yang mengakibatkan diabetes secara kimia.(Diambil dari Lenzen, 2008).

5) Metformin

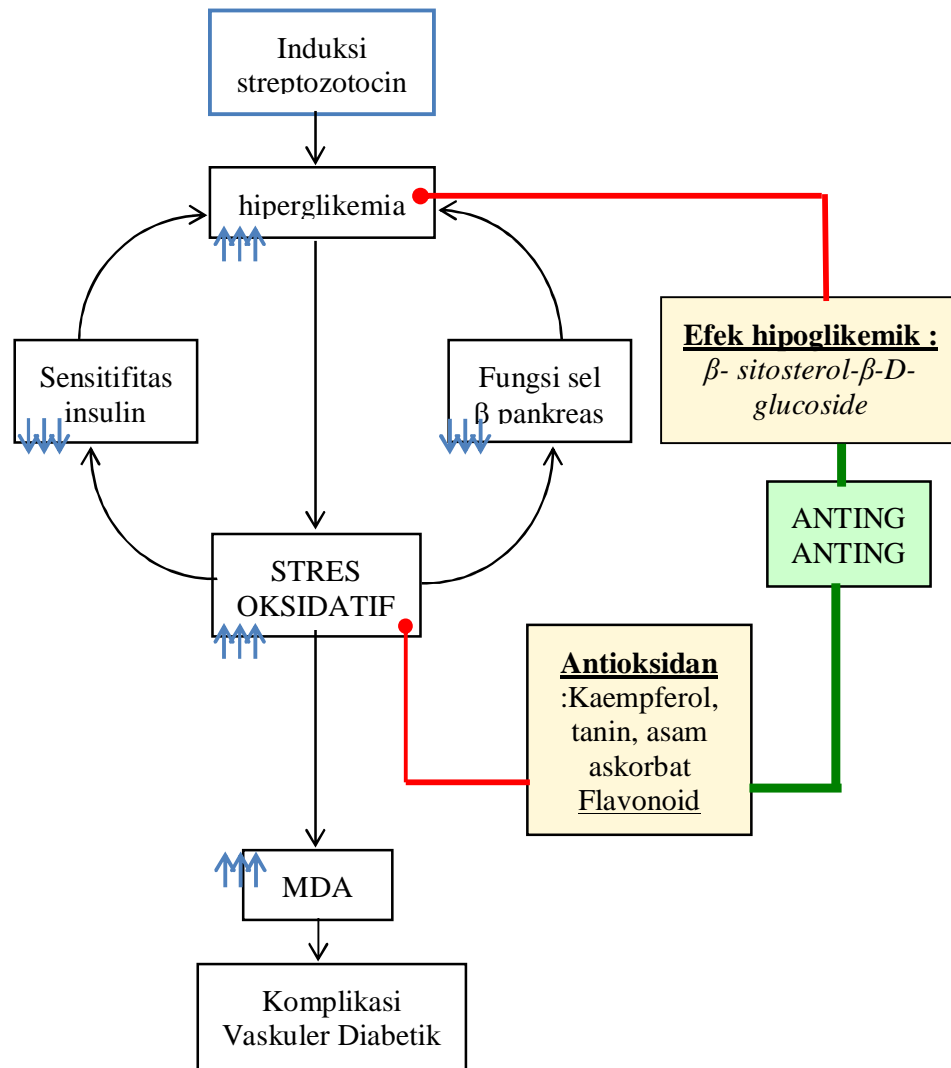
Metformin biguanid (dimetil biguanid) adalah obat anti hiperglikemik oral yang banyak digunakan pada terapi NIDDM.

Metformin menurunkan kadar gula darah dengan cara memperbaiki sensitivitas hepar dan jaringan perifer terhadap insulin tanpa mempengaruhi sekresi insulin. Cara kerja metformin sangat kompleks dan multifaktorial, walaupun demikian hasil berbagai penelitian menunjukkan bahwa efek kerja utamanya ialah meningkatkan pemakaian glukosa di jaringan perifer sehingga menurunkan resistensi insulin (Karam, 1998).

Pada level molekuler, aksi ini diperantarai sedikit bagian oleh aktivasi sel kinase AMP yang diaktifkan oleh protein kinase (AMP kinase). Mekanisme dimana metformin menurunkan produksi glukosa di hepar adalah kontroversial, tapi banyak data yang menunjukkan efek menurunkan glukoneogenesis. Metformin juga dapat menurunkan plasma glukosa dengan menurunkan absorpsi glukosa dari usus besar, tapi aksi ini tidak menunjukkan efek klinis (Davis, 2006).

B. Kerangka Pemikiran

1. Kerangka Konseptual



Gambar 2.7. Kerangka Konseptual

Keterangan :

- : mengaktivasi
- : menghambat
- ↓↓↓ : menurunkan
- ↑↑↑ : meningkatkan
- : mengandung

2. Kerangka Teoritis

Streptozotocin secara luas telah digunakan untuk menginduksi DM, baik *insulin-dependent* dan *non-insulin-dependent diabetes mellitus* pada hewan coba. Pemberian dosis streptozotocin yang tepat dapat memulai proses autoimun yang mengarah pada kerusakan sel β pankreas dan efek toksik DM eksperimental ini akan terlihat dalam 2-4 hari. Manifestasi klinis yang terlihat seperti polifagia, poliuria, polidipsia, hipoinsulinemia, hiperglikemia dan penurunan berat badan akan terlihat 3 hari setelah induksi (Akbarzadeh, 2007).

Akibat keadaan hiperglikemia karena induksi streptozotocin, terjadi pengaktifan beberapa jalur yang mengakibatkan peningkatan stres oksidatif, yaitu jalur poliol, jalur peningkatan produksi AGEs, jalur aktivasi *PKC*, jalur *hexosamine pathway flux* (Adi, 2009) dan autooksidasi glukosa (Setiawan, 2005). Bila berlangsung lama, keadaan ini akan memicu kerusakan sel β -pankreas sehingga mengakibatkan hiperglikemia bertambah berat dan produksi insulin semakin berkurang. Keempat jalur tersebut juga berpengaruh besar terhadap terbentuknya MDA akibat meningkatnya produksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida tersebut akan bereaksi dengan molekul-molekul biologi termasuk protein dan lipid serta dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk dari proses ini (Slatter, 2000). Bila stress oksidatif dan pembentukan MDA

terjadi berkepanjangan maka akan memicu terjadinya kerusakan sel dan jaringan yang akan mengakibatkan komplikasi vaskular DM.

Herba anting-anting memiliki beberapa efek farmakologis antara lain efek hipoglikemia, antidiabetik, antioksidan dan antiAGE. Efek anti diabetik dimiliki oleh asam askorbat dan fiber, sedangkan efek hipoglikemik dimiliki oleh *β -sitosterol- β -D-glucoside*. Efek hipoglikemia tersebut akan menurunkan kadar glukosa darah pada hiperglikemia dan akan menurunkan risiko terjadinya stress oksidatif secara tidak langsung pada sel dan jaringan. Selain sebagai anti diabetik, asam askorbat memiliki efek antiAGE yang akan menghambat pembentukan AGEs sehingga mengurangi kerusakan vaskular serta pembentukan MDA. Sedangkan antioksidan seperti kaempferol, tanin dan asam askorbat serta flavonoid akan mempengaruhi keadaan hiperglikemia dengan menghambat terjadinya stress oksidatif.

Dari keterangan diatas, maka diharapkan anting-anting dapat digunakan sebagai herba yang dapat mengurangi kadar glukosa darah serta dapat menjadi terapi DM, termasuk komplikasi vaskularnya.

C. Hipotesis

Ekstrak herba anting-anting menurunkan kadar MDA pada Mencit Balb/C dengan induksi streptozotocin.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat penelitian eksperimental laboratorium *post test only group designs*.

B. Lokasi Penelitian.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Uji Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa Mencit Balb/C jantan dengan usia kurang lebih 4–6 minggu dengan berat badan 20-30 g Mencit Balb/C diperoleh dari UD. Wistar, Dadapan, Jl Parangtritis Km 8, Yogyakarta.

D. Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan *purposive sampling* yang dilanjutkan dengan *simple random sampling* untuk membagi subyek penelitian menjadi empat kelompok, yaitu :

Kelompok I	:Kelompok mencit normal (kontrol)
Kelompok II	:Kelompok mencit dengan DM
Kelompok III	:Kelompok mencit dengan DM yang diberi metformin dosis 1,3 mg/mencit/hari
Kelompok IV	:Kelompok mencit dengan DM yang diberi ekstrak anting-anting dosis 1000 mg/kgBB/hari

E. Besar Sampel

Karena besar sampel yang digunakan merupakan skala numerik, jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus untuk sampel idependen (tidak berpasangan) untuk menaksir perbedaan rerata antara 2 populasi.

$$n = 2 \left[\frac{Z_{\alpha} s}{d} \right]^2$$

Keterangan:

- n : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan
- Z_{α} : nilai pada distribusi normal standar untuk uji dua sisi pada tingkat kemaknaan α . Misalnya 1,96 untuk $\alpha=0,05$
- s : simpangan baku pada dua kelompok
- d : tingkat ketepatan absolut dari beda rerata (Arief, 2008)

Karena insidensi belum diketahui, maka ditetapkan $s = d$, sehingga didapatkan :

$$n = 2 \left[\frac{Z_{\alpha} d}{d} \right]^2$$

$$n = 2 [Z_{\alpha}]^2$$

$$n = 2[1,96]^2$$

$$n = 2(3,846)$$

$$n = 7,68$$

$$n = 8$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 8 ekor mencit untuk setiap kelompok percobaan. Jadi, jumlah minimal mencit yang diperlukan selama percobaan adalah 32 ekor.

F. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Ekstrak anting-anting (*Acalypha indica* Linn).
2. Variabel Terikat : Kadar glukosa darah dan kadar MDA plasma.
3. Variabel Pengganggu
 - a. Terkendali : jenis kelamin, berat badan, dan umur mencit, makanan dan minuman, serta dosis induksi streptozotocin.
 - b. Tak terkendali : adanya stress terhadap adaptasi lingkungan tempat percobaan, variasi kepekaan mencit terhadap zat dan obat yang digunakan.

G. Skala Variabel

1. Ekstrak anting-anting : skala nominal
2. Kadar MDA plasma : skala numerik

H. Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak anting-anting

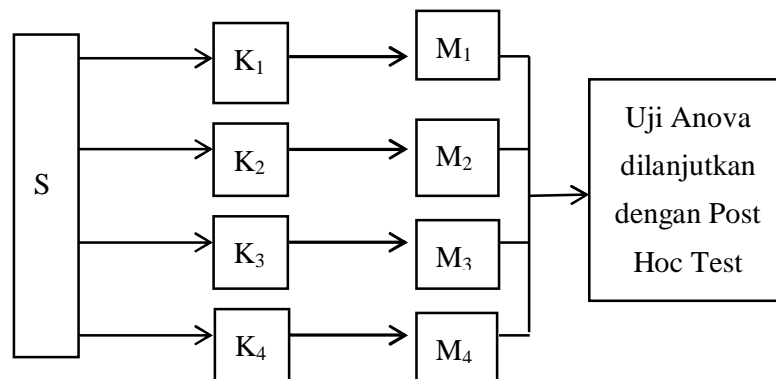
Ekstrak anting-anting dibuat dari tanaman anting-anting yang didapat dari Desa Banyurejo, Tempel, Sleman, Yogyakarta. Tanaman anting-anting dikeringkan, dihaluskan, dan kemudiandiekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan dengan metode perkolasi dan dibuat di Laboratorium Pengembangan dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM), Yogyakarta. Ekstrak anting-anting diberikan secara peroral dengan dosis 1000mg/kgBB/hari atau setara dengan 0,15 ml setiap pemberian/ hari.

2. Kadar *Malondialdehyde*

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sebelum pemeriksaan, terlebih dahulu dilakukan perlakuan kepada sampel. Sampel darah mencit diambil dengan pungsi vena, menggunakan pipa kapiler pada sinus orbitalis mencit dan dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi EDTA untuk selanjutnya dilakukan sentrifugasi. Setelah sentrifugasi (3000 rpm, 15 menit, 37°C), plasma segera diletakkan dalam es kering dan disimpan pada suhu -70°C. Kadar MDA plasma diukur berdasarkan prosedur Pyles *et al.* (1993), 1ml plasma dicampur dengan 4 ml *thiobarbituric acid* (TBA) reagen untuk kemudian divortex. Selanjutnya diinkubasi 80 menit dalam suhu 90°C diikuti dengan pendinginan yang cepat dalam air es selama 10 menit. Larutan 4 ml *n*-

butyl-alcohol layer ditambahkan ke dalam larutan dan divortex dan disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit dalam tabung khusus dan diambil bagian teratasnya untuk dilakukan analisis. MDA plasma diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510, 532 dan 560 nm (Jozwik, 1999).

I. Rancangan Penelitian



Gambar 3.1. Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : jumlah sampel

K₁: kelompok I (kontrol)

K₂: kelompok II (DM)

K₃: kelompok III (DM + metformin 9 mg/mencit/hari)

K₄: kelompok IV (DM + ekstrak anting-anting 1000 mg/kgBB/hari)

M₁: kadar MDA plasma K₁

M₂: kadar MDA plasma K₂

M₃: kadar MDA plasma K₃

M₄: kadar MDA plasma K₄

J. Instrumentasi Penelitian

1. Alat :

a. Kandang hewan uji

- b. Timbangan elektrik
 - c. Sduit injeksi tuberkulin
 - d. Gelas piala
 - e. Labu ukur
 - f. Pipet ukur
 - g. Sonde mencit
 - h. Blood glucose stick meter
 - i. Tabung endovet
2. Bahan
- a. Streptozotocin
 - b. Buffer sitrat
 - c. Ekstrak anting-anting
 - d. Aquadest
 - e. Metformin
 - f. Broiler I

K. Penentuan Dosis

1. Induksi streptozotocin

Umumnya induksi diabetes dilakukan dengan pemberian streptozotocin dalam 0.15 M NaCl dan 100 mM buffer sitrat pH 4.5 secara intraperitoneal (Nakhaee, 2009). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Arora *et.al* (2009) dosis tunggal streptozotocin 180 mg/kgBB dapat menginduksi DM tipe I dan dosis streptozotocin 40 mg/kgBB yang diberikan selama 5 hari berturut-turut dapat menyebabkan DM tipe II. Pada penelitian lain juga digunakan dosis tunggal streptozotocin 240 mg/kgBB dapat menginduksi DM tipe I (Nacci *et.al*, 2009)

Pada penelitian ini digunakan streptozotocin sebanyak 500 mg yang dilarutkan dalam 50 ml buffer sitrat 0,02M, sehingga 1 ml larutan mengandung 10 mg streptozotocin. Dosis streptozotocin yang digunakan tidak mengacu pada penelitian yang telah ada, namun peneliti menggunakan dosis 65 mg/kgBB yang diberikan dua kali dengan selang waktu 5 hari. Bila berat mencit rata-rata adalah 30 gram, maka dibutuhkan 1,95mg streptozotocin untuk setiap ekor mencit. Jika 1 ml larutan mengandung 10 mg streptozotocin, maka induksi secara intraperitoneal memerlukan 0,195 ml larutan.

2. Ekstrak Anting-anting

Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah 1000 mg/kgBB/hari. Bila setiap mencit mempunyai berat 30 gram, maka:

$$\text{Dosis 1 ekor mencit} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ gramBB}} \times 30 \text{ gramBB} = 30 \text{ mg}$$

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan per oral pada mencit adalah 1 ml/20 gramBB (Ngatidjan, 1991). Jadi dalam memperkirakan dosis anting-anting yang akan di uji tidak boleh melebihi 1 ml/20 gramBB. Oleh karena itu dilakukan pengenceran ekstrak, dengan rincian 60 gram ekstrak dilarutkan dalam 300 ml aquades .

$$\begin{aligned} \text{Pengenceran ekstrak} &= \frac{60 \text{ g ekstrak}}{300 \text{ ml aquades}} = \frac{60.000 \text{ mg ekstrak}}{300 \text{ ml aquades}} \\ &= 200 \text{ mg ekstrak dalam 1 ml larutan} \end{aligned}$$

Atau dengan kata lain 1 ml larutan mengandung 200 mg ekstrak. Bila dosis tiap mencit adalah 30 mg maka volume ekstrak yang diberikan adalah 0,15 ml tiap mencit setiap hari.

3. Metformin

Berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis untuk berbagai hewan uji dari berbagai spesies dan manusia, maka konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg pada mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026 (Ngatidjan, 1991). Dosis metformin yang digunakan untuk orang dewasa adalah 500 mg/hari, dengan demikian dosis untuk mencit 20 gram = $(500\text{mg} \times 0,0026) = 1,3 \text{ mg/mencit/ hari}$. Karena pemberian metformin dilakukan secara peroral, maka perlu dilakukan pelarutan dalam aquades dengan rincian 26mg metformin dilarutkan dalam 2 ml aquades. Bila dosis tiap mencit adalah 1,3 mg maka volume metformin yang diberikan adalah 0,1 ml tiap mencit setiap hari.

L. Alur Penelitian

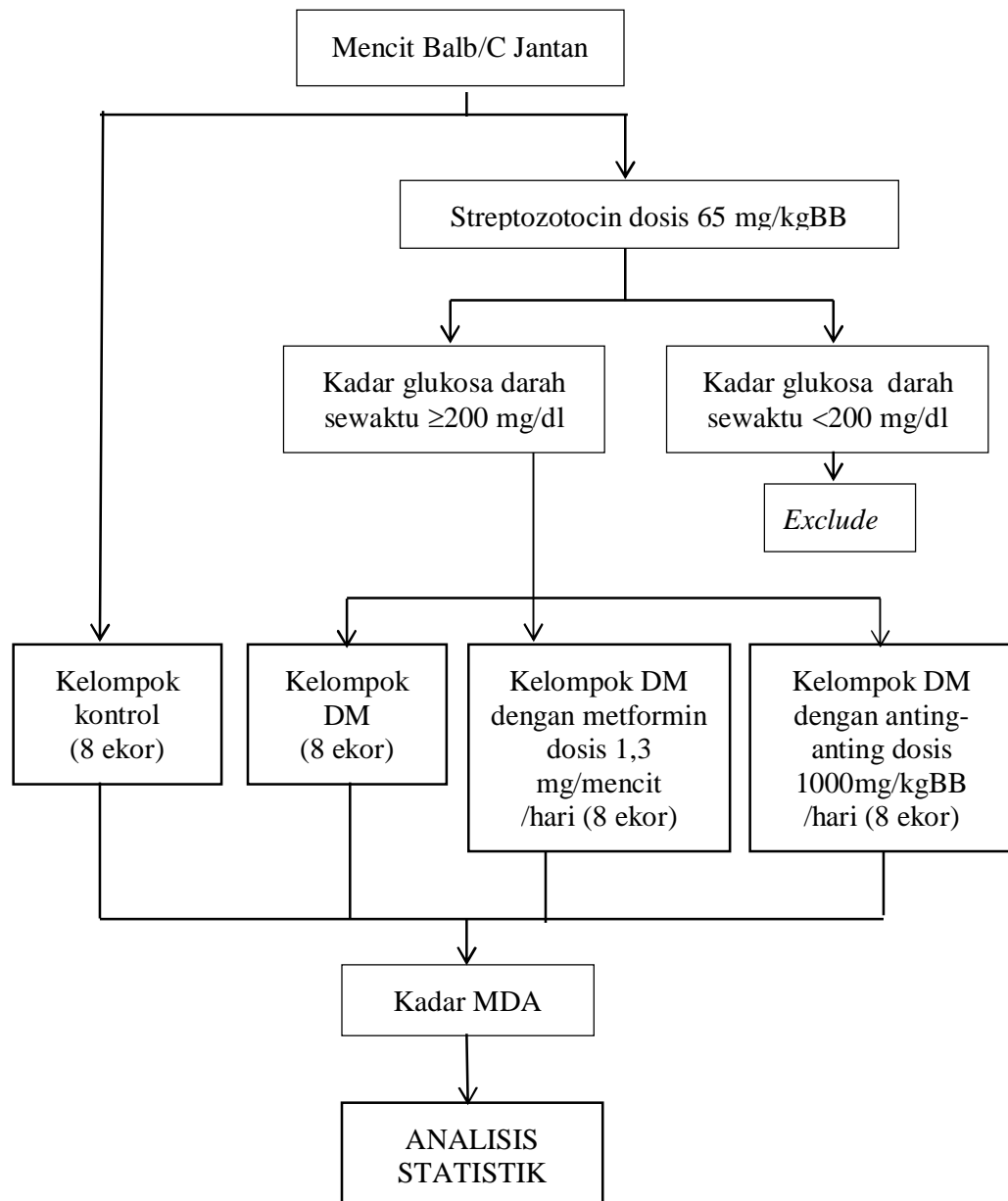
1. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan selama 1 minggu.
2. Mencit dikelompokkan secara *simple random sampling* menjadi 4 kelompok, masing-masing 8 ekor dengan perlakuan :
 - a. Kelompok I : hanya diberi diet standar, sebagai kontrol.
 - b. Kelompok II : diinduksi streptozotocin 65 mg/kgBB diulang dengan dosis yang sama 4-5 hari kemudian,

diberi diet standar, sebagai kontrol negatif (kelompok DM).

c. Kelompok III :diinduksi streptozotocin 65 mg/kgBB diulang dengan dosis yang sama 4-5 hari kemudian, diberi diet standar dan metformin dosis 1,3 mg/mencit/hari secara peroral setiap hari.

d. Kelompok IV :diinduksi streptozotocin 65 mg/kgBB diulang dengan dosis yang sama 4-5 hari kemudian, diberi diet standar dan ekstrak anting-anting dosis 1000 mg/kgBB/hari secara peroral setiap hari.

3. Pemeriksaan glukosa darah dilakukan 2 hari setelah induksi streptozotocin, dan pada akhir paparan (minggu ke-2) dilakukan pemeriksaan MDA plasma mencit.



Gambar 3.2. Skema alur penelitian

M. Desain Analisis Statistik

Penelitian ini menggunakan uji statistik parametrik karena variabel diambil secara random dengan *simple random sampling* dan skala pengukuran numerik (Bhisma, 2006). Data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik menggunakan uji Anova dilanjutkan dengan Post Hoc Test menggunakan *SPSS for Windows Release 16.0* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya. Dipilih uji *one-way* Anova karena penelitian ini menggunakan lebih dari 2 kelompok untuk menguji kemampuan generalisasi sehingga data sampel dianggap mewakili populasi. Adapun syarat yang harus dipenuhi pada uji *one-way* Anova antara lain :

1. Data numerik pada kelompok kategorik
2. Sampel kelompok independen dan diambil secara random
3. Diasumsikan varians populasi homogen
4. Data berdistribusi normal atau mendekati normal.

Bila syarat uji *one-way* Anova terpenuhi maka dapat dilanjutkan dengan *Least Significant Difference (LSD) Post Hoc Test* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok.

Bila syarat uji *one-way* Anova tidak terpenuhi maka harus dilakukan transformasi data agar data diperoleh varian sama. Bila tidak diperoleh varian yang sama maka digunakan pengujian alternatif berupa uji non-parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* (Uji *Mann Whitney*) (Sopiyudin, 2008).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

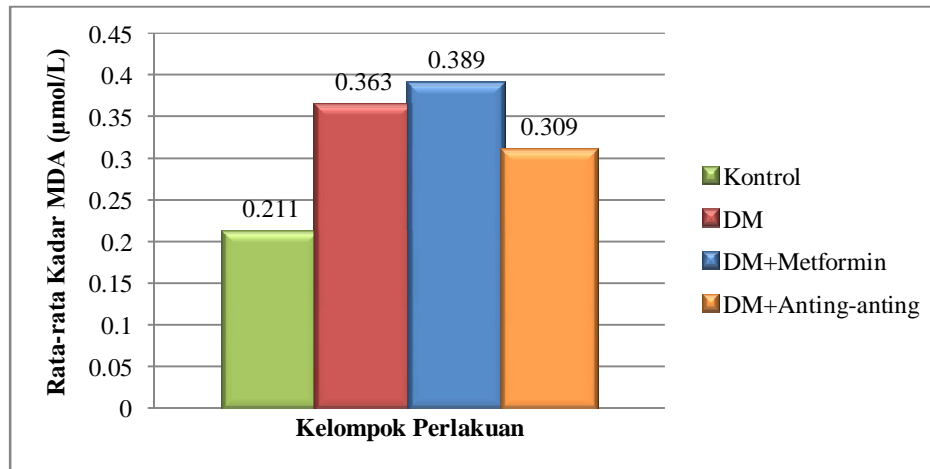
A. Hasil Penelitian

Pada penelitian hubungan pemberian ekstrak anting-anting (*Acalypha indica* Linn) terhadap kadar *malondialdehyde* Mencit Balb/c induksi streptozotocin didapatkan kadar GDS untuk mencit kontrol $147,75 \pm 14,21$ mg/dl (Ocktarini, 2010) dengan kadar MDA $0,211 \pm 0,145$ $\mu\text{mol/L}$. Pemberian STZ dosis 65 mg/kgBB yang diberikan dua kali dalam selang waktu 5 hari menunjukkan peningkatan kadar GDS menjadi $226,78 \pm 49,28$ mg/dl (Ocktarini, 2010) yang diiringi dengan peningkatan kadar MDA mencit model diabetes menjadi $0,363 \pm 0,208$ $\mu\text{mol/L}$. Pemberian ekstrak herba anting-anting pada hewan uji menunjukkan adanya penurunan kadar MDA menjadi $0,309 \pm 0,145$ $\mu\text{mol/L}$, namun tidak demikian pada pemberian metformin. Pada pemberian metformin terjadi peningkatan kadar MDA menjadi $0,389 \pm 0,187$ $\mu\text{mol/L}$. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Rata-rata Kadar *Malondialdehyde* Mencit Balb/c ($\mu\text{mol/L}$).

Kelompok Perlakuan	Rata-rata \pm SD
Kontrol	$0,211 \pm 0,145$
DM	$0,363 \pm 0,208$
DM + Metformin	$0,389 \pm 0,187$
DM + Herba Anting-anting	$0,309 \pm 0,145$

Bila digambarkan dalam diagram akan terlihat :



Gambar 4. 2. Diagram batang rata-rata MDA mencit sesudah perlakuan.

B. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* menggunakan program *SPSSfor Windows Release 16.0* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya

Untuk melakukan uji *Anova*, data harus terdistribusi normal. Berdasarkan uji normalitas *Shapiro-wilk* (karena jumlah sampel kurang dari 50) didapatkan nilai signifikansi untuk semua kelompok $p > 0,05$ sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa distribusi kelompok tersebut adalah normal. Berikut ini hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* :

Tabel 4. 2. Hasil Uji *Shapiro-Wilk* pada kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	<i>p</i>
Kontrol	0,623
DM	0,629
DM + Metformin	0,524
DM + Herba Anting-anting	0,525

Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa syarat uji *Anova* terpenuhi sehingga uji *Anova* dapat dilakukan. Hasil uji *Anova* ditunjukkan dalam tabel 4.3.

Tabel 4. 3. Hasil Uji Statistik dengan Uji *Anova*

Test of Homogeneity of Variance

Kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0,445	3	28	0,723

ANOVA :

Kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,150	3	0.050	1.655	0,199
Within Groups	0,846	28	0,030		
Total	0,996	31			

Dari hasil *Significancy Test homogeneity of variances* didapatkan angka 0,723 ($p > 0,05$) sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan varian antara kelompok data yang dibandingkan atau dengan kata lain varian data normal. Karena varian data sama, maka hasil uji *Anova* pada tabel adalah valid. Berdasarkan uji *Anova* didapatkan nilai signifikansi $p = 0,199$ sehingga untuk masing-masing kelompok tidak terdapat perbedaan kadar MDA secara bermakna. Oleh karena itu tidak dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*.

BAB V

PEMBAHASAN

Streptozotocin secara luas telah digunakan untuk menginduksi DM, baik *insulin-dependent* dan *non-insulin-dependent diabetes mellitus* pada hewan coba. Pemberian dosis streptozotocin yang tepat dapat memulai proses autoimun yang mengarah pada kerusakan sel β pankreas dan efek toksik DM eksperimental ini akan terlihat dalam 2-4 hari (Akbarzadeh, 2007). Hal ini terlihat dari hasil penelitian Ocktarini (2010), mencit yang diinduksi STZ dosis 65 mg/kgBB dalam 0,02 M larutan buffer sitrat secara biokimiawi menunjukkan tanda-tanda diabetes yang diperlihatkan dengan peningkatan kadar GDS dari kontrol $147,75 \pm 14.21$ mg/dl menjadi $226,78 \pm 49,28$ mg/dl.

STZ telah diketahui dapat meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS), yang memberikan kontribusi terhadap fragmentasi DNA dan memicu perubahan dalam sel. STZ secara selektif terakumulasi pada sel β pankreas melalui *low-affinity GLUT2 glucose transporter* pada membran plasma (Elsner, 2000). Masuknya gugus metil (alkilasi) dari streptozotocin kedalam molekul DNA akan menyebabkan kerusakan pada fragmen DNA. Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan *poly adenosine diphosphate* (ADP)-*ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD^+) seluler, lebih lanjut akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate* (ATP) (Szkudelski, 2001). Peningkatan *ATP dephosphorylation* ini akan memberikan

substrat untuk *xanthine oxidase* sehingga akan mempercepat reaksi yang menghasilkan anion superoksida sebagai produk akhirnya. Akibat dari pembentukan anion superoksida ini, maka akan terjadi aktivasi dari hidrogen peroksidase dan radikal-radikal hidroksil lainnya.

Analisis MDA dengan menggunakan metode thiobarbituric acid (TBA) secara luas digunakan beberapa tahun terakhir untuk mengetahui level peroksidasi lipid serta radikal bebas (Tukozkan, 2006). Hiperglikemia diketahui sebagai salah satu penyebab meningkatnya jumlah radikal bebas. Produksi radikal bebas yang disebabkan oleh hiperglikemia dapat terjadi melalui beberapa jalur, antara lain peningkatan glikolisis, peningkatan produksi *Advanced Glycation End products* (AGEs), aktivasi protein kinase C (*PKC*), aktivasi jalur sorbitol (poliol) dan autooksidasi glukosa. Tingginya hiperglikemia ini dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif yang memicu kerusakan sel β pankreas, menyebabkan degranulasi dan penurunan sekresi insulin yang turut meningkatkan komplikasi vaskular diabetik. Baik non-radikal maupun radikal oksidan dapat menyebabkan peroksidasi lipid terutama pada lipoprotein yang mengandung *unsaturated fatty acids* (Ahmed, 2005). Peningkatan peroksidasi lipid ini akan berimbas pada peningkatan MDA serum. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan kadar MDA kontrol $0,211 \pm 0,145 \mu\text{mol/L}$ menjadi $0,363 \pm 0,208 \mu\text{mol/L}$ pada kelompok DM.

Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) banyak tersebar didaerah tropis seperti India, Filipina, dan Indonesia. Di Indonesia, tanaman ini banyak digunakan sebagai antiradang, antibiotik, diuretik, pencahar dan penghenti

perdarahan (hemostatis) dalam bentuk segar atau yang telah dikeringkan (Dalimartha, 1999). Penelitian Nahrstedt (2006) menunjukkan bahwa anting-anting mengandung tanin, *acalyphin*, *acalyphamide*, *aurantiamide*, *succinimide*, dan *pyranoquinolinone alkaloid flindersin*. Selain itu anting-anting juga mengandung β -sitosterol- β -D-glucoside, asam askorbat dan fiber. Kandungan kimia tersebut memiliki beberapa efek farmakologis antara lain efek hipoglikemia, antidiabetik dan antioksidan (Duke, 2010). Pada penelitian Mahdi (2003) telah terbukti bahwa pemberian dosis 500 mg/kgBB ekstrak *Acalypha indica* Linn dapat menurunkan kadar GDS serta kadar MDA tikus putih model diabetes induksi streptozotocin. Selain itu *Acalypha indica* Linn menunjukkan sedikitnya 81,6% aktivitas antioksidan (Marwah, 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak herba anting-anting dosis 1000 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar GDS rata-rata mencit 144.62 ± 60.48 mg/dl. Hal ini diiringi dengan penurunan kadar MDA kelompok anting-anting menjadi $0,309 \pm 0,145$ μ mol/L dibandingkan dengan kelompok DM yang berkisar $0,363 \pm 0,208$ μ mol/L. Berdasarkan hasil analisis data diketahui bahwa ekstrak anting-anting mampu menurunkan kadar MDA namun bila dibandingkan antar kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan secara bermakna. Hal ini mungkin dikarenakan durasi pemberian ekstrak yang singkat (2 minggu) dibandingkan pada penelitian Mahdi (2003) yang lamanya perlakuan adalah 30 hari, dengan pemberian ekstrak anting-anting 500 mg/kgBB/hari, atau karena kadar antioksidan dan flavonoid dalam ekstrak terlalu kecil sehingga pemberian

dosis 1000mg/kgBB/hari selama 2 minggu belum mampu menurunkan kadar MDA secara bermakna.

Pada pemberian metformin dosis 500 mg/kgBB/hari juga terlihat penurunan kadar GDS rata-rata mencit 145.87 ± 50.22 mg/dl. Namun justru sebaliknya pada kelompok ini terjadi peningkatan kadar MDA menjadi $0,389 \pm 0,187$ $\mu\text{mol/L}$ dibandingkan dengan kelompok DM yang berkisar $0,363 \pm 0,208$ $\mu\text{mol/L}$. Metformin adalah obat hipoglikemik oral (OHO) yang mekanisme kerjanya menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adipose (Suherman, 2007). Secara *in vivo*, metformin juga memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menurunkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Bonnefont-Rousselot, 2003). Namun, penelitian terbaru menunjukkan bahwa metformin, dalam dosis farmakologis, dapat memodulasi produksi ROS intraseluler (Faure, 2008). Pada beberapa penelitian tidak didapatkan penurunan kadar MDA yang signifikan pada DM tipe 2 yang diterapi dengan metformin, bahkan didapatkan peningkatan kadar MDA. Metformin dianggap tidak efektif dibandingkan dengan OHO lain dalam menurunkan hiperlipidemia maupun kadar MDA (Iida et.al, 2003; Aviles-Santa, 1999; Tessier, 1999).

Pada penelitian ini terdapat banyak kekurangan, antara lain:

1. Waktu pelaksanaan yang telampau singkat (2 minggu) sehingga efek yang ingin diketahui oleh peneliti belum jelas terlihat.
2. Penggunaan dosis tunggal herba anting-anting sehingga tidak diketahui efek minimal dan maksimalnya dalam berbagai dosis.

BAB IV

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari penelitian ini didapatkan simpulan bahwa pemberian ekstrak anting-anting (*Acalypha indica* Linn) dosis 1000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA Mencit Balb/C namun tidak bermakna secara statistik ($p=0,538$).

B. Saran

Mengingat adanya keterbatasan dan kekurangan dalam penelitian ini, maka diperlukan penelitian lebih lanjut dengan beberapa perbaikan:

1. Penelitian dilakukan dengan waktu yang lebih lama, sehingga dapat diamati lebih jauh efek ekstrak anting-anting terhadap kadar MDA serta komplikasi-komplikasi yang ditimbulkannya.
2. Penentuan dosis ekstrak anting-anting yang tepat dan dilakukan variasi dosis pemberian sehingga didapatkan hasil penelitian yang maksimal sesuai yang diharapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed RG. 2005. The Physiological and Biochemical Effects on the Balance between Oxidative Stress and Antioxidant Defense System. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences* 15:1, 31-42.
- Akbarzadeh A, Norouzian and Mehrabi MR. 2007. Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian J. of Chemical Biochemistry* 22 (2): 60-64.
- American Diabetes Association. 2008. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 31 (Supl 1), S35 dan S38.
- Arief MTQ. 2008. Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kesehatan. Surakarta : Sebelas Maret University Press, pp: 133-4.
- Arora S, Ojha SK and Vohora D. 2009. Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice. *Global J. Pharmacol* 3 (2): 81-84.
- Aviles-Santa L, Sinding J, and Raskin P. 1999. Effects of met- formin in patients with poorly controlled, insulin-treated type 2 diabetes mellitus. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 131:182-8.
- Badcock N, Zoanetti G and Martin E. 1997. Nonchromatographic Assay for Malondialdehyde-Thiobarbituric Acid Adduct with HPLC Equivalence. *Clinical Chemistry* 43:1655-7.
- Balakrishnan N, Panda AB, Raj NR, Shrivastava A and Prathani R. 2009. The Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of *Acalypha Indica* Linn Root. *Asian J. Research Chem* 2(2): 148-50.
- Bhisma M. 2006. *Desain dan Ukuran Sampel Untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

- Bonnefont-Rousselot D, Ragi B and Walrand S. 2003. An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metab* 54: 586-9.9
- Carr AC and Frei B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr* 69:1086-107.
- Current Protocols. 2010. *Measurement of a Malondialdehyde-DNA Adduct*. <http://www.currentprotocols.com/protocol/tx0302>. (24 Maret 2010)
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid II*. Jakarta: Trubus Agri Widya, Hal:123-5.
- Duke JA. 2010. *List of chemical of Acalypha indica Linn. In : Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. http://sun.arsgrin.gov:8080/npgspub/xsql/duke/pl_act.xsql?taxon=16. (20 Februari 2010)
- Droge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R and Lenzen S. 2000 Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia* 43:1528–33.
- EU Project. 2010. EU Project : *Local Food – Nutraceuticals*. <http://www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/EUWeb/Goethe.htm> (6 April 2010)
- Faure P, Wiernspenger N, Polge C, Faviers A and Halimi S. 2008. Impairment of the antioxidant properties of serum albumin in patients with diabetes: protective effects of metformin. *Clinical Science* 114: 251–6.
- Gustaviani R. 2007. *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus*. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata MI (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 3. Edisi 4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen

Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia,
Hal:1857.

Handajani YS, Tenggara R, Suyatna FD, Surjadi C and Widjaja NT. 1999. The effect of oxygenated water in diabetes mellitus. *Med J Indones* 18: 102-7.

Holt RIG. 2004. Diagnosis, epidemiology and pathogenesis of diabetes mellitus: an update for psychiatrists. *British J of Psychiatry* 184 (suppl. 47), s55-s63.

Iida KT, Kawakami Y, Suzuki M, Shimani H, Toyoshima H, Sone H, *et.al.* 2003. Effect of Thiazolidinediones and Metformin on LDL Oxidation and Aortic Endothelium Relaxation in Diabetic GK Rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E1125-130.

IPTEKnet. 2009. *Kucing-kucingan (Acalypha indica L.) dalam Tanaman Obat Indonesia.* http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=231. (12 Februari 2010)

Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowics M. 1999. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Molecular Human Reproduction* 5 (5): 409–413.

Karam JH. 1998. *Hormon Pankreas dan Obat-obat antidiabetes.* Dalam : Katzung, B.G. (eds) *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 4. Jakarta: EGC, Hal:674-5.

Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-26.

Mahdi AA, Chandra A, Singh RJ, Shukia A, Mishra LC and Ahmad S. 2003. Effect of Herbal Hypoglycemic Agent on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Diabetic Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 18 (2): 8-15.

- Mahreen R, Mohsin M and Nasreen Z. 2010. Significantly Increased Levels of Serum Malondialdehyde in Type 2 Diabetic with Myocardial Infarction. *Int J Diab Ctries* 30(1):49-51.
- Marwah RG, Fatope MO, Al Mahrooqi RS, Varma GB, Al Abasi H, Al-Burtamani KS. 2007. Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food Chem* 101:465-70.
- Nacci C, Tarquinio M, De Benedictis L, Mauro A, Zigrino A and Carratu` MR, Quon MJ. 2009. Endothelial Dysfunction in Mice with Streptozotocin-induced Type 1 Diabetes Is Opposed by Compensatory Overexpression of Cyclooxygenase-2 in the Vasculature. *Endocrinology* 150(2):849–861.
- Nahrstedt A, Hungeling M and Petereit F. 2006. Phytochemical communication Flavonoids from *Acalypha indica*. *Fitoterapia* 77 : 484–486.
- Nakhaee A, Bokaeian M and Savarani M. 2009. Attenuation of Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats by *Eucalyptus globulus*. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 24 (4):419-425.
- Nandhakumar M, Tamil IG, Senthilkumar M, Dinesh KB and Mitra A. 2009. In Vitro Assay Of Alpha Amylase Inhibitory Activity Of Indian Medicinal Herb *Acalypha Indica*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 3:1475-1478.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM. Yogyakarta. Hal: 94-152
- Nielsen F and Andersen HR. 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry* 43(7):1209 –1214.
- Nurhaman A. 2010. *Acalypha indica* L. *E-Prosea*. Sp. pl. 2: 1003 (1753).

- Ocktarini R. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Ating-ating (Acalypha indica Linn) terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Induksi Streptozotocin*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret. Skripsi.
- Perkeni. 2006. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, Jakarta: PB PERKENI.
- Protabase Record display. 2010. *Acalypha indica* L. Protologue 2: 1003 (1753)
- Pyles LA, Stejskal EJ, Einzig S. Spectrophotometric Measurement of Plasma 2-Thiobarbituric Acid-reactive Substances in the Presence of Hemoglobin and Bilirubin Interference. *Proc Soc Exp Biol Med*. 202(4):407-19.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Rahbani-Nobar M, Adi-Beig F and Mirhashemi SM. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients. *Med J of Islamic Academy of Sciences* 12(4):109-14.
- Schteingart DE. 2005a. *Pankreas : Metabolisme Gula dan Diabetes Mellitus*. Dalam : Price, S.A. dan Wilson, L. (eds). *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses Proses Penyakit* 3 (6). Jakarta: EGC, Hal:1260.
- Schteingart DE. 2005b. *Pankreas : Metabolisme Gula dan Diabetes Mellitus*. Dalam : Price, S.A. dan Wilson, L. (eds). *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses Proses Penyakit*. Volume 3. Edisi 6. Jakarta: EGC, Hal:1268-9.
- Setiawan B dan Suhartono E. 2005. Stess oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Maj Kedokt Indon* 55 (2):86-91.
- Slatter DA, Bolton CH and Bailey AJ. 2000. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia* 43:550-57.
- Slatter DA, Murray M and Bailey AJ. 1998. Formation of a dihydropyridine derivative as a potential crosslink from malondialdehyde in physiological systems. *FEBS Letts* 421: 18-184.

- Sopiyudin MD. 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: PT. ARKANS Entertainment & Education in Harmony.
- Suherman SK. 2007. *Insulin dan Antidiabetik Oral*. Dalam : Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi (eds). *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Hal:489-95.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol Res* 50: 536-546.
- Tessier D, Maheux P, Khalil A, and Fulop T. 1999. Effects of gliclazide versus metformin on the clinical profile and lipid peroxidation markers in type 2 diabetes. *Metabolism* 48: 897– 903.
- Tukozkan N, Erdamar H and Seven I. 2006. Measurement of Total Malondialdehyde in Plasma and Tissues by High-Performance Liquid Chromatography and Thiobarbituric Acid Assay. *Firat Tıp Dergisi* 11(2): 88-92.
- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, and Osawa T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 32:897-900.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R and King H. 2004. Global Prevalence of Diabetes, Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27(5):1047-53.
- Yuniarti T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Media Pressindo, Hal: 28-30.
- Yunir dan Soebardi S. 2007. *Terapi Non Farmakologis pada Diabetes Melitus*. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata MI (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid 3. Edisi 4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Hal:1864.